



Title	Characterization of IL-6 receptor expression by monoclonal and polyclonal antibodies
Author(s)	平田, 裕一
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38313
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	平 田 裕 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 4 8 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 12 月 16 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Characterization of IL-6 receptor expression by monoclonal and polyclonal antibodies (モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を用いた IL-6レセプター発現様式の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岸 本 忠 三 (副査) 教 授 濱 岡 利 之 教 授 平 野 俊 夫

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

クローニングしたヒト IL-6レセプター遺伝子を利用して、レセプターに対する抗体を作成し、レセプター分子の諸性質を明かにする。

〔方法ならびに成績〕

ヒト IL-6レセプター cDNA 塩基配列から推定される細胞内領域より15アミノ酸からなるポリペプチドを合成し、ウサギに免疫することによりポリクローナル抗体を得た。IL-6レセプターを大量に発現しているヒトミエロマ細胞株U266から、この抗体を用いて免疫沈降したところ分子量約80Kdのレセプター分子が検出された。この大きさは、cDNA 塩基配列より計算される値50Kdと大きくずれている。この差を説明する為、免疫沈降したレセプターをノイラミダーゼ、N-グリカナーゼ、O-グリカナーゼを用いて消化したところ、どの酵素によってもその分子量は減少した。これら3種類全ての酵素を用いると、レセプター分子の大きさは予想分子量とほぼ等しい約50Kdとなり、分子量の差はN型糖鎖およびO型糖鎖の結合によるものであることが明らかになった。

また別のアプローチとして、マウスT細胞株 CTLL2に cDNA を導入しヒト IL-6レセプターを発現させ、その細胞をマウスに免疫することによりモノクローナル抗体 MT 18を得た。さらに MT 18を用いて免疫沈降したレセプター分子をマウスに免疫することにより、別のモノクローナル抗体PM1を得た。得られた2種のモノクローナル抗体は、いずれも抗ペプチド抗体と同様に約80Kdの分子を免疫沈降し、IL-6レセプター分子を認識していることが確かめられた。

このうち MT18は、レセプター分子に結合はするものの、IL-6とレセプターの結合は阻害せず、シグナル伝達にも全く影響を与えなかった。一方、PM 1は IL-6と競合しその結合を阻害することが明らかになった。さらに PM 1は IL-6が結合した状態のレセプターには結合することができなかった。このことから PM 1の認識するエピトープは IL-6結合部位かその近傍であることが推定された。また PM 1抗体は、T細胞リンパ腫細胞株KT3のIL-6依存性増殖を阻害し、IL-6の機能を中和し得ることが明かとなった。

MT18を用いた蛍光抗体染色法による解析では、扁桃腺B細胞をマイトジェンで刺激するとCD21陽性のB細胞の内、IgD陰性B細胞にIL-6レセプターの発現誘導が認められた。この結果は、B細胞分化におけるIL-6の作用時期と一致しており、リーズナブルな結果であった。また末梢血T細胞を用いた解析では、CD4+/CD8-, CD4-/CD8+の細胞にそれぞれIL-6レセプターの発現が認められ、その発現量はT細胞をマイトジェンにより活性化しても変化は認められなかった。

[総括]

IL-6レセプターの分布や機能を調べる上で、非常に有用な2種のモノクローナル抗体が得られた。1つは、レセプターとリガンドの結合を阻害しない抗体(MT18)で、FACSやELISAのアッセイに適した抗体である。もう1つ(PM1)は、レセプターへの結合を阻害し、IL-6やレセプターの機能の解析に利用できる。これらの抗体を用いることにより、より詳細なIL-6シグナル伝達系の解析が可能となった。

論文審査の結果の要旨

当研究により、IL-6レセプターの分布や機能を調べる上で、有用な2種のモノクローナル抗体が得られた。1つは、レセプターとリガンドの結合を阻害しない抗体(MT18)で、FACSやELISAのアッセイに適した抗体である。もう1つの抗体(PM1)は、IL-6のレセプターへの結合を阻害するので、IL-6の機能の解析に有用な抗体である。これらの抗体は、IL-6シグナル伝達系の解析等に重要な役割を果たすとともに、臨床への応用も考えられている。

このような抗IL-6レセプター抗体の作製を報告した当研究論文は、IL-6を中心とした研究の発展に欠かせないものであり、学位論文として適当と考えられる。